

УДК 57.089

DOI: 10.26456/vtbio292

ФОРМИРОВАНИЕ ФИСТУЛЫ У РЫБ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ В ДИНАМИКЕ

Г.И. Пронина¹, А.Б. Петрушин¹, А.О. Ревякин²

¹Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

²Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности, Ржавки

Показана возможность прижизненного формирования фистулярного отверстия на передней части кишечника карпа для изучения процессов пищеварения в динамике

Ключевые слова: фистула, рыбы, пищеварение.

Введение. Кишечное пищеварение является одним из сложных и важных механизмов физиологии организма животных и человека и несмотря на множество открытий в данной области, из-за трудностей прижизненного изучения пищеварения и существующих этических норм многое еще остается малоизученным. Однако крайне важным представляется понимание фундаментальных процессов пищеварения в динамике, а также в свете эволюционных преобразований. В этой связи использование рыб как альтернативного модельного объекта является актуальным направлением исследований функций желудочно-кишечного тракта.

Изучение кишечного пищеварения рыб сопряжено с определенными трудностями, связанными как со сложностью доступа к пищеварительной системе в целом, так и с особенностями строения разных отделов ЖКТ. В частности, у карпа в полости тела между петлями кишечника находится печень и поджелудочная железа (гепатопанкреас), а у отдельных видов (миноги, двоякодышащие) последняя располагается непосредственно в стенке кишечника (Стегней, Федьшин, 2019). Несмотря на это, вопросу пищеварения рыб уделяется внимание многих исследователей, как отечественных, так и зарубежных. В основном это связано с переходом от экстенсивной формы выращивания рыб к интенсивной, что вынужденно повлекло за собой изменение кормовой базы, самих кормов и их состава. Данные исследования носят в основном сравнительный или констатационный характер – когда идет оценка корма или интенсивности пищеварения по изменению хозяйственно-полезных признаков – скорости роста, объему потребленного корма, устойчивости иммунной системы и т.д.

(Moreau, Luquet, 1991; Volkoff, Rønnestad, 2020). Однако физиологические основы пищеварения у рыб исследуют не часто, так как кроме озвученных выше трудностей, фундаментальное исследование данных процессов предполагает «исследования в динамике» в среде обитания, что еще более усложняет задачу по объективным причинам. Первые попытки по фистулированию рыб и изучению процессов пищеварения, в том числе в динамике были проведены еще в начале XX в. (Сулима, 1919). В середине прошлого века предлагались различные подходы к решению данного вопроса. Одним из исследователей, которому удалось частично провести оценку пищеварения в динамике являлся В.А. Пегель (1950), который предложил использовать известные Меттовские палочки для оценки как моторной, так и ферментативной активности. Им же впервые были предложены некоторые методы хирургического вмешательства в желудочно-кишечный тракт рыб и изучение процессов *in vivo* и *in situ*. Данные работы были продолжены Б.В. Краюхиным (1963). Им же были разработаны методы наложения желудочных и кишечных фистул на разных видах рыб. После открытия А.М. Уголевым пристеночного пищеварения сам процесс пищеварения стали рассматривать несколько иначе (Уголев, Кузьмина, 1993). В основу новой концепции легло понимание того, что все процессы, происходящие в ЖКТ, являются упорядоченными, эндогенная фракция – структурированной, а отдельные реакции – единой цепью общего процесса. В связи с этим снова становится актуальным вопрос о разработке методик прижизненного изучения процессов пищеварения. Так в 2006 г была предложена модель устройства и методика прижизненного изучения пищеварения у рыб (Кокорин, Истомина, 2006), а в 2021 году – *in-vitro* модель оценки пищеварения у рыб (Wang R et.al., 2021). В разное время Классическим подходом к изучению пищеварения в динамике считается «Павловский» метод – использование изолированных органов и наложение фистул. Данные методики широко и успешно применяются для исследований на высших животных. Так Фисинин и др. (2017), Борисенко, Вертипрахов (2018) применяли методику фистулирования у кур как метод изучения кишечного пищеварения и исследования активности пищеварительных ферментов. Методики наложения фистул у разных видов животных описаны в исследованиях многих зарубежных ученых (Aikawa et.al. 2013, Arakakia et.al., 2013, Ma-Mu-Ti-Jiang et.al., 2017).

Подобные успешные эксперименты с гидробионтами являются единичными (Пегель, 1950; Краюхин, 1963). Основные ограничения заключаются в сложности проведения прижизненной операции, специфике иммунитета и особенностях водного образа жизни.

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования являлось формирование фистулярного отверстия на переднем отделе кишечника карпа, с условием сохранения жизни рыбы.

Материал и методика. Работа выполнялась на базе рыбоводного хозяйства «Киря» Чувашской республики. Объектом исследования был карп (*Cyprinus carpio* L.) двухгодовик.

В качестве формирователя фистулы использовался пластиковый переходник аэратора (рис. 1).

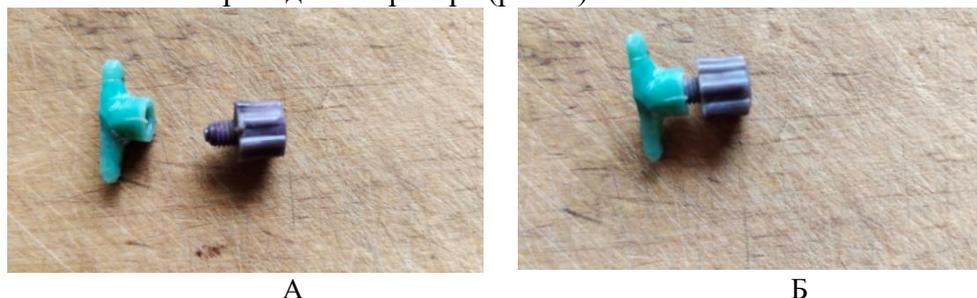


Рис. 1. Материал для фистулизации: А – разобранный; Б – в сборе

Для проведения самой операции использовали стандартный набор хирургических инструментов: скальпель, иглодержатель, ножницы, хирургические иглы, гемостатические зажимы. В качестве шовного материала натуральный шелк №6.

Наркоз осуществляли путем погружения рыбы в ванну с 0,04% водным раствором фармакопейного гвоздичного масла. Седация наступала через 5-7 минут. Затем рыбу помещали на операционный стол и фиксировали с помощью полотенца из вафельной ткани. Операционное поле обрабатывалось 70% этиловым спиртом.

Результаты и обсуждение. Для наложения фистулы использовался классический метод энтеротомии. Для этого в месте операции удаляли чешую и делали Т-образный разрез: одна линия по белой линии живота на 3-4 см краниальнее анального отверстия, вторая перпендикулярно ему от середины первого разреза на левую сторону (рис. 2).

Затем подтягивали и фиксировали наиболее выступающую из птаопанкреаса со стороны разреза петлю кишечника.

После чего делали поперечный надрез, вставляли фистулу и накладывали двойной кистный шов на кишечник для ее фиксации. Затем кишечник изнутри подшивали к брюшной стенке и коже в двух местах для формирования спаек и фиксации кишечника и фистулы.

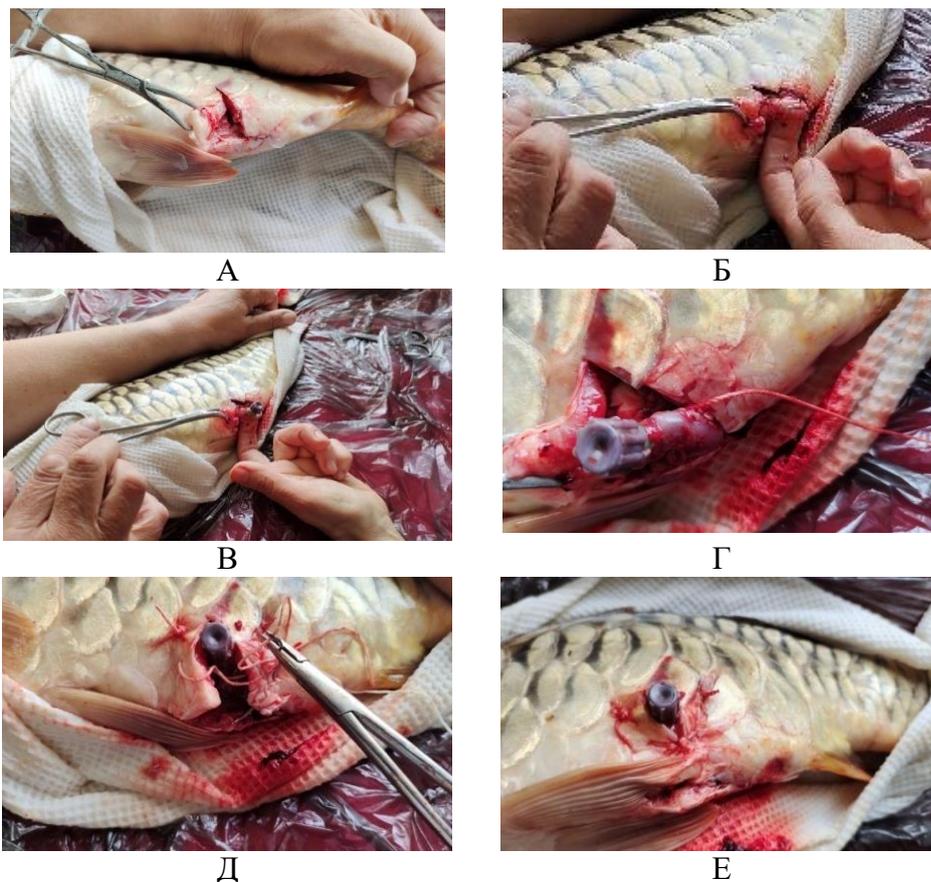


Рис. 2. Этапы оперативного вмешательства: А – разрез и препарирование кожи; Б – извлечение и фиксация переднего отдела кишечника; В – вставление фистулы; Г - наложение двойного кисетного шва на кишечник; Д – фиксация петли кишечника с фистулой и наложение швов на кожу; Е – вид операционной раны после завершения фистулизации

Время операции составляло 12 минут, после чего рыбу выпускали в ванну с прудовой водой. Через 12 часов рыба была высажена в неглубокий опытный пруд площадью 0,6 га с 35 годовиками карпа; через месяц в пруд были посажены 40 производителей карпа после окончания инкубационной кампании. Контроль выживаемости биологической модели и приживаемости фистулы осуществляли в момент облова прудов через 6 месяцев. После чего рыба была пересажена в зимовальный пруд.

Методологические нюансы:

- Низкая температура воды: 9-10°C.
- Голодная диета 3 дня.

По истечению 6 месяцев рыба была выловлена и подвергнута визуальному осмотру. Результат эксперимента наглядно представлен на рисунке 3. Сформированная фистула имела вид естественного отверстия, выстланного слизистой, края ровные, плотно сжатые. Была отмечена незначительная подкожная гиперемия околофистулярной ткани. Признаков бактериального воспаления не наблюдалось. Прирост рыбы за вегетационный сезон составил 740 г и достиг 2,2 кг.



Рис. 3. Сформированная фистула переднего отдела кишечника: А – проверка проходимости фистулярного отверстия; Б – внешний вид фистулярного отверстия

В настоящем эксперименте показана возможность прижизненного формирования фистулы карпу с сохранением жизни в хроническом варианте (возможность длительного исследования). В дальнейшем по данной методике планируется создать достаточное количество биологических моделей для детального морфологического и гистологического изучения, как тканей фистулы, так и возможных изменений в морфологии кишечника. Данный метод позволяет получить адекватную биологическую модель для изучения процессов пищеварения у рыб.

Заключение. Таким образом, операция по формированию фистулы кишечника у карпа завершилась успешно. Показана возможность прижизненной фистулизации рыб. Данный метод позволяет получить адекватную модель для изучения процессов пищеварения у рыб в динамике.

Список литературы

- Борисенко К.В., Вертипрахов В.Г.* 2018. Активность пищеварительных ферментов при добавке в корм бройлеров протеазы // Птицеводство. № 10. С. 20-23.
- Кокорин Н.В, Истомин И.Г.* 2006. Патент на полезную модель № 58295 U1 Российская Федерация, МПК А01К 61/00. Устройство для прижизненного изучения у рыб процессов пищеварения: № 2006117104/22: заявл. 19.05.2006: опубл. 27.11.2006 / заявитель

- Федеральное государственное унитарное предприятие "Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии" (ФГУП ВНИРО).
- Краюхин Б.В.* 1963. Физиология пищеварения пресноводных костистых рыб. М: Издательство академии наук СССР. 140 с.
- Пегель В.А.* 1950. Физиология пищеварения рыб. Труды Томского государственного университета им. В.В. Куйбышева. Том 108. Серия Биологические. 199с.
- Стегней Н.М., Федышин П.М.* 2019. Морфологические особенности печени и почек карпа // Современные проблемы и перспективы исследований в анатомии и гистологии животных: материалы Международной научно-практической конференции. Витебск: ВГАВМ. С.76-78.
- Сулима А.Ф.* 1919. К пищеварению рыб // Русский физиологический журнал Т. 2. Вып. 1-3.
- Уголев А.М., Кузьмина В.В.* 1993. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. Санкт-Петербург: Гидрометеиздат. 238 с.
- Фисинин В.И., Вертипрахов В.Г., Грозина А.А, Свиткин В.С.* 2017 Методы изучения кишечного пищеварения у сельскохозяйственной птицы // Вестник российской сельскохозяйственной науки. № 5. С. 25-27.
- Aikawa M., Miyazawa M., Okada K., Akimoto N., Koyama I., Yamaguchi S., Ikada Y.* 2013. A Newly Designed Anal Fistula Plug: Clinicopathological Study in an Experimental Iatrogenic Fistula Model // *Int Surg*; 98. P. 122-128 DOI: 10.9738/CC180
- Arakakia M.S., Marques dos Santos C.H., Falcão G.R., Cassinob P.C., Nakamurab R.K., Gomes N.F., Coutinho dos Santos R.G.* 2013. Experimental model of anal fistula in rats // *Journal of Coloproctology*. V. 33. № 3. P. 135-138.
- Ma-Mu-Ti-Jiang A Ba-Bai-Ke-Re, Hui Chen, Xue Liu, Yun-Hai Wang.* 2017. Experimental porcine model of complex fistula-in-ano // *World J Gastroenterol*. V. 23(10). P. 1828-1835.
- Moreau Y., Luquet P.* 1991. Étude du transit digestif chez un poissonchat, l'Atipa (*Hoplosternum littorale*). Influence de repas successifs // *Rev. Hydrobiol. trop.* V. 24 (4). P. 349-355.
- Volkoff H., Rønnestad I.* 2020. Effects of temperature on feeding and digestive processes in fish // *Temperature*. V. 7(4). P. 307-320.
- Wang R., Mohammadi M., Mahboubi A., Taherzadeh M.J.* 2021. In-vitro digestion models: a critical review for human and fish and a protocol for in-vitro digestion in fish // *Bioengineered*. V. 12(1). P. 3040-3064,

FORMATION OF A FISTULA IN FISH TO STUDY THE PROCESSES OF DIGESTION IN DYNAMICS

G.I. Pronina¹, A.B. Petrushin¹, A.O. Revyakin²

¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev
Agricultural Academy, Moscow

² Russian Research Institute of the Poultry Processing Industry, Rzhavki

The possibility of in vivo formation of a fistular opening on the anterior part of the intestine of carp for studying the processes of digestion in dynamics is shown.

Keywords: *fistula, fish, digestion.*

Об авторах:

ПРОНИНА Галина Иозеповна – доктор биологических наук, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства, ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49, e-mail: gidrobiont4@yandex.ru.

ПЕТРУШИН Александр Борисович – старший научный сотрудник, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник кафедры аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49, e-mail: x-bob83@mail.ru

РЕВЯКИН Артем Олегович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории технологии детских и специальных продуктов 141552, ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности, 141552, Московская обл., г. о. Солнечногорск, рп Ржавки, стр. 1, e-mail: ar@vniipp.ru.

Пронина Г.И. Формирование фистулы у рыб для изучения процессов пищеварения в динамике / Г.И. Пронина, А.Б. Петрушин, А.О. Ревякин // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2023. № 1(69). С. 92-98.

Дата поступления рукописи в редакцию: 02.11.22

Дата подписания рукописи в печать: 01.03.23